



PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

This is to certify that the annexed is a true copy
of the following application as filed with this Office.

Date of Application : September 20, 2000

Application Number : Japanese Patent Application
No. 2000-284854

Applicant(s) : OLYMPUS OPTICAL CO., LTD.

Certified on December 1, 2000

Commissioner,
Patent Office

Kozo OIKAWA (Sealed)

Certification No. 2000-3099831

PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

This is to certify that the annexed is a true copy
of the following application as filed with this Office.

Date of Application : February 22, 2000

RECEIVED
AUG 20 2001
TC 1700

Application Number : Japanese Patent Application
No. 2000-044547

Applicant(s) : OLYMPUS OPTICAL CO., LTD.

Certified on June 29, 2001

Commissioner,
Patent Office

Kozo OIKAWA (Sealed)

Certification No. 2001-3061405



日 本 国 特 許 庁

PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日

Date of Application:

2000年 9月20日

出 願 番 号

Application Number:

特願2000-284854

出 願 人

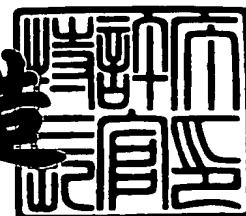
Applicant (s):

オリンパス光学工業株式会社

2000年12月 1日

特許庁長官
Commissioner,
Patent Office

及 川 耕 造



出証番号 出証特2000-3099831

【書類名】 特許願

【整理番号】 00P01731

【提出日】 平成12年 9月20日

【あて先】 特許庁長官 及川 耕造 殿

【国際特許分類】 C12N 15/09
G01N 33/566
G01N 35/10

【発明の名称】 マイクロアレイ製造装置および製造方法

【請求項の数】 4

【発明者】
【住所又は居所】 東京都渋谷区幡ヶ谷 2 丁目 4 3 番 2 号 オリンパス光学
工業株式会社内

【氏名】 高橋 誠也

【発明者】
【住所又は居所】 東京都渋谷区幡ヶ谷 2 丁目 4 3 番 2 号 オリンパス光学
工業株式会社内

【氏名】 福岡 荘尚

【特許出願人】
【識別番号】 000000376
【氏名又は名称】 オリンパス光学工業株式会社

【代理人】
【識別番号】 100059258
【弁理士】
【氏名又は名称】 杉村 暁秀

【選任した代理人】
【識別番号】 100072051
【弁理士】
【氏名又は名称】 杉村 興作

【選任した代理人】

【識別番号】 100098383

【弁理士】

【氏名又は名称】 杉村 純子

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 015093

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9703798

【書類名】 明細書

【発明の名称】 マイクロアレイ製造装置および製造方法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 標的物質に対して特異的に結合可能なプローブを含む液体を基板上に微量吐出することによりマイクロアレイを製造するマイクロアレイ製造装置において、

前記液体をその内部の流路に保持するとともに該流路の一端に吐出口を有する流路部材と、

前記流路部材を吐出方向に沿って進退移動させる駆動手段と、

吐出方向と直交する平面内において前記基板および前記流路部材の相対位置関係を変化させる相対移動手段とを備え、

前記流路部材を前記駆動手段によって吐出方向に沿って進退移動させることにより、前記流路部材に保持された液体を前記吐出口から吐出するようにしたことを特徴とするマイクロアレイ製造装置

【請求項 2】 前記液体を前記流路部材に供給するための液体容器であって、前記液体を液面が大気開放されるように収容する液体容器をさらに備え、

前記流路部材の流路の他端を開放端として、該開放端を前記液体容器内の液体に浸漬するように構成し、

毛細管現象により前記液体容器から前記流路部材内に前記液体が供給されるようにしたことを特徴とする請求項 1 記載のマイクロアレイ製造装置。

【請求項 3】 前記相対移動手段は、前記基板を移動させることにより前記基板および前記流路部材の相対位置関係を変化させるように構成されていることを特徴とする請求項 2 記載のマイクロアレイ製造装置。

【請求項 4】 請求項 1～3 の何れか 1 項記載のマイクロアレイ製造装置を用いてマイクロアレイを製造することを特徴とするマイクロアレイの製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、基板上にプローブを含む液体のスポットをマトリックス状に高密度

配置して成るマイクロアレイを製造するマイクロアレイの製造装置および、該マイクロアレイの製造装置を用いてマイクロアレイを製造するマイクロアレイの製造方法に関するものである。

【0002】

【従来の技術】

マイクロアレイの製造方法の従来技術としては、例えば特開平11-187900号公報に開示されたものがある。この従来技術では、プローブを含む液体試料をインクジェット法により液滴として固相（固体基板）上に付着させることにより、プローブを含むスポットを固相上に形成するようにしている。以下、図10および図10のA-A線断面図である図11を用いて上記従来技術によるマイクロアレイの製造方法の概略を説明する。

【0003】

図10において、101は吐出液としてのプローブ（例えば核酸プローブ）を含む液体を吐出可能に保持する液体供給系（ノズル）であり、103は該核酸プローブが結合されるべき固相（例えば透明ガラス板）であり、105はインクジェットヘッドの一種であって前記液体に熱エネルギーを付与して吐出させる機構を備えるバブルジェットヘッドであり、104はバブルジェットヘッド105から吐出された核酸プローブを含む液体である。

【0004】

また、図11に示すバブルジェットヘッド105において、107は吐出されるべき核酸プローブを含む液体であり、117は該液体に吐出エネルギーを付与する発熱部を有する基板部分である。この基板部分117は、酸化シリコン等で形成されている保護膜109と、アルミニウム等で形成されている電極111-1および111-2と、ニクロム線等で形成されている発熱抵抗体層113と、蓄熱層115と、放熱性の良好なアルミナ等で形成されている支持体116とを含んでいる。

【0005】

上記核酸プローブを含む液体107は吐出オリフィス（吐出口）119まで到達しており、所定の圧力によってメニスカス121を形成している。この状態で

電極 1 1 1 - 1 および 1 1 1 - 2 に電気信号を加えると、符号 1 2 3 で示す領域（発泡領域）が急激に発熱し、この領域に接している液体 1 0 7 に気泡が発生する。その気泡の圧力によりメニスカスが吐出され、オリフィス 1 1 9 から液体 1 0 7 が吐出される。この吐出された液体 1 0 7 は、固相 1 0 3 の表面に向かって飛翔する。

【0 0 0 6】

上記のような構造を備えるバブルジェットヘッドを用いて吐出可能な液体の量は、そのノズルのサイズ等によって異なるが、例えば 4 ～ 5 0 ピコリットル程度に制御することが可能であるため、高密度に核酸プローブを配置させる手段として極めて有効である。なお、上記従来技術の公報には、上述したバブルジェットヘッドに代えて、ピエゾ素子の振動圧を利用してノズル内の液体を吐出するピエゾジェットヘッドを用いることが可能であると記載されている。

【0 0 0 7】

【発明が解決しようとする課題】

上記従来技術は、微小量のプローブ試料を高精度かつ高密度に固相基板上に配置し得る利点を有しているが、液体を吐出するための気泡以外に吐出ヘッド内に気泡が混入するおそれがあり、吐出ヘッド内に気泡が混入した場合には吐出される液体の量が変化したり液体の吐出ができなくなる場合があり、その場合、マイクロアレイのスポット径が不均一になるという問題が生じる。すなわち、上記従来技術においては、液体試料の交換時や液体試料中の溶存酸素の気化等によって流路内に気泡が混入することがあり、気泡が混入した場合には液体を吐出するための圧力が混入した気泡によって減衰してしまい、吐出される液体の量が変化してしまう。

【0 0 0 8】

本発明は、プローブを含む液体を吐出する流路内に気泡が混入した場合であっても均一なスポット径を有するマイクロアレイを製造し得るマイクロアレイ製造装置および製造方法を提供することを目的とする。

【0 0 0 9】

【課題を解決するための手段】

上記目的を達成するため、請求項 1 に記載の第 1 発明は、標的物質に対して特異的に結合可能なプローブを含む液体を基板上に微量吐出することによりマイクロアレイを製造するマイクロアレイ製造装置において、前記液体をその内部の流路に保持するとともに該流路の一端に吐出口を有する流路部材と、前記流路部材を吐出方向に沿って進退移動させる駆動手段と、吐出方向と直交する平面内において前記基板および前記流路部材の相対位置関係を変化させる相対移動手段とを備え、前記流路部材を前記駆動手段によって吐出方向に沿って進退移動させることにより、前記流路部材に保持された液体を前記吐出口から吐出するようにしたことを特徴とする。

【 0 0 1 0 】

上記目的を達成するため、請求項 2 に記載の第 2 発明は、前記液体を前記流路部材に供給するための液体容器であって、前記液体を液面が大気に開放されるように収容する液体容器をさらに備え、前記流路部材の流路の他端を開放端として、該開放端を前記液体容器内の液体に浸漬するように構成し、毛細管現象により前記液体容器から前記流路部材内に前記液体が供給されるようにしたことを特徴とする。

【 0 0 1 1 】

請求項 3 に記載の第 3 発明は、前記相対移動手段は、前記基板を移動させることにより前記基板および前記流路部材の相対位置関係を変化させるように構成されていることを特徴とする。

【 0 0 1 2 】

上記目的を達成するため、請求項 4 に記載の第 4 発明は、第 1 発明～第 3 発明の何れかのマイクロアレイ製造装置を用いてマイクロアレイを製造することを特徴とする。

【 0 0 1 3 】

第 1 発明では、標的物質に対して特異的に結合可能なプローブを含む液体をその内部の流路に保持するとともに該流路の一端に吐出口を有する流路部材を駆動手段によって吐出方向に沿って進退移動させることにより、吐出方向に沿って進む方向に移動している流路部材が停止したとき、該流路部材内の液体に慣性力が

作用して、流路内の液体に吐出方向へ向かう流れが発生し、この流れにより吐出口から微小量の液滴が基板上に吐出される。このような微小量の液滴の吐出を、相対移動手段によって吐出方向と直交する平面内において基板および流路部材の相対位置関係を変化させながら繰り返すことにより、基板上の所望の位置に前記液体が吐出され、マイクロアレイが製造される。

【0014】

第1発明によれば、前記液体に作用する慣性力は流路内に気泡が存在する場合であってもその大きさが変化しないので、気泡の有無に拘わらず一定量の液体を一定速度で吐出することが可能である。そのため、基板上に吐出される液体の吐出量および吐出位置の精度を向上させることができる。

また、前記流路部材はその内部の流路に前記液体を保持しているため、該流路部材の進退移動により液体に印加される圧力は吐出口近傍で上昇することになるので、液体の吐出速度を大きくすることができる。

【0015】

第2発明では、流路部材の内部に設けられた一端に吐出口を有する流路の他端は開放端になっており、この開放端を、標的物質に対して特異的に結合可能なプローブを含む液体を前記流路部材に供給するための液体容器であって前記液体を液面が大気に開放されるように収容する液体容器内の液体に浸漬するように構成したため、毛細管現象により前記液体容器から前記流路部材内に前記液体が供給され、該液体がその内部の流路に保持されることになる。この流路部材を駆動手段によって吐出方向に沿って進退移動させることにより、吐出方向に沿って進む方向に移動している流路部材が停止したとき、該流路部材内の液体に慣性力が作用して、流路内の液体に吐出方向へ向かう流れが発生し、この流れにより吐出口から微小量の液滴が基板上に吐出される。このような微小量の液滴の吐出を、相対移動手段によって吐出方向と直交する平面内において基板および流路部材の相対位置関係を変化させながら繰り返すことにより、基板上の所望の位置に前記液体が吐出され、マイクロアレイが製造される。

【0016】

第2発明によれば、前記液体に作用する慣性力は流路内に気泡が存在する場合

であってもその大きさが変化しないので、気泡の有無に拘わらず一定量の液体を一定速度で吐出することが可能である。そのため、基板上に吐出される液体の吐出量および吐出位置の精度を向上させることができる。

また、前記流路部材はその内部の流路に前記液体を保持しているため、該流路部材の進退移動により液体に印加される圧力は吐出口近傍で上昇することになるので、液体の吐出速度を大きくすることができる。

さらに、前記流路部材内の流路に前記液体を導入するための液体供給機構が不要になるので、装置の小型化や装置コストの低減が可能になる。

【0017】

第3発明によれば、前記相対移動手段により前記基板および前記流路部材の相対位置関係を変化させる際には、前記基板を移動させるが、前記流路部材は移動させないので、相対位置関係を変化させる際に前記流路部材の吐出口のメニスカス位置が変動して前記液体の吐出位置精度に影響を与えるおそれがない。

【0018】

第4発明によれば、第1発明～第3発明の何れかのマイクロアレイ製造装置を用いてマイクロアレイを製造するから、製造されたマイクロアレイは、上述した第1発明～第3発明の内の該当する作用効果を有するものとなる。

【0019】

【発明の実施の形態】

以下、本発明の実施の形態を図面に基づき詳細に説明する。図1は本発明の第1実施形態のマイクロアレイ製造装置の構成を示す正面図であり、図2(a)、(b)はそれぞれ、本発明の第1実施形態のマイクロアレイ製造装置の構成を示す上面図およびそのB部詳細図であり、図3は第1実施形態のマイクロアレイ製造装置に搭載されている液体吐出ユニットの斜視図であり、図4(a)～(e)は第1実施形態の液体吐出ユニットの液体吐出ヘッドによる液体吐出動作を説明するための図であり、図5は第1実施形態の液体吐出ヘッドの積層圧電素子の駆動波形を例示する図である。

【0020】

まず、本実施形態のマイクロアレイ製造装置1の概略構成を図1、図2(a)

，（b）および図3により説明する。本実施形態のマイクロアレイ製造装置1には、図3に示す8本の液体吐出ヘッド20から成る液体吐出ユニット71が、X，Y，Z方向（左右、前後、上下方向）に移動可能なXYZロボット（相対移動手段）72に搭載されており、それぞれの液体吐出ヘッド20は、テフロン配管24（右端の1本のみを図示し、他は図示を省略する）を介してシリンジピストンポンプ25に接続されている。

【0021】

シリンジピストンポンプ25には、前記テフロン配管24以外に液体供給タンク26に至る別の配管が接続されており、この別の配管により、シリンジピストンポンプ25は電磁弁27および送水ポンプ28を介して液体供給タンク26に順次接続されている。液体吐出ヘッド20とシリンジピストンポンプ25と液体供給タンク26とは、概略同一高低位置に設置されている。液体供給タンク26内には洗浄水となる水または脱気されたイオン交換水が入っており、送水ポンプ28により、各配管24、シリンジピストンポンプ25および液体吐出ヘッド20に洗浄水が充填供給されている。

【0022】

液体吐出ヘッド20の上部には、駆動手段である積層圧電素子29が設けられている。積層圧電素子29の変位方向の一端（図示上端）は架台30に固定されており、他端（図示下端）は流路部材31に固定されている。積層圧電素子29は、その変位によって流路部材31を吐出方向（Z方向）に進退移動させる。流路部材31は、図3の右端の一部断面図に示すように、液体導入口33と流路34とノズル35とから成り、流路34はストレート部36とテーパ部37とから成る。液体導入口33はテフロン配管24を介してシリンジピストンポンプ25に接続されている。流路34の概略寸法は、ストレート部36が直径 $\phi 0.5\text{ mm}$ ～ $\phi 4\text{ mm}$ で、長さが 2 mm ～ 15 mm である。テーパ部37はストレート部36からノズル35に向かって形成されており、テーパ角度は 10° ～ 45° である。ノズル35の直径は $\phi 0.03\text{ mm}$ ～ $\phi 0.15\text{ mm}$ であり、長さは 0.05 mm ～ 1 mm である。

【0023】

ノズル 3 5 の端面および外周面には低表面エネルギー物質であるフッ素系材料による撥水層が設けられている。積層圧電素子 2 9 と流路 3 4 との間は剛体として形成されているため、積層圧電素子 2 9 の変位により流路 3 4 の容積が変化することはない。また、積層圧電素子 2 9 の一端は架台 3 0 に固定されているため、流路部材 3 1 全体が積層圧電素子 2 9 の変位に伴って移動するようになっている。積層圧電素子 2 9 には、図示しない駆動回路からリード線またはフレキシブル基板により後述するような所望の波形の電圧を印加するようになっている。

【 0 0 2 4 】

試料容器 7 3 は、図 2 (a) に示すように横 8 列×縦 1 2 列から成る合計 9 6 個の孔を有しており、ベース上に 6 枚設置されている。それぞれの試料容器 7 3 の孔には蛍光標識化された一本鎖 DNA プローブを含んだ DNA 溶液が入っている。液体吐出ユニット 7 1 の液体吐出ヘッド 2 0 は、試料容器 7 3 の横 8 列の孔のピッチと同一のピッチで並べられている。7 4 は基板として用いる多孔質のメンブレンフィルタであり、この上に、後述する方法によって DNA 溶液の微小液滴を 2 次元マトリクス状に配置する。メンブレンフィルタ 7 4 の寸法は 5 mm × 5 mm ~ 2 0 mm × 2 0 mm (例えば約 8 mm × 8 mm) であり、図示しない吸着装置によって可動ステージ 7 5 上に複数枚が吸着固定されている。本実施形態では、図 2 (b) の詳細図に示すように、1 2 8 枚のメンブレンフィルタ 7 4 を設置するものとする。

【 0 0 2 5 】

図 2 に示す 7 6 は洗浄槽であり、この洗浄槽 7 6 により液体吐出ユニット 7 1 の洗浄を行う。液体吐出ユニット 7 1 は、XYZ ロボット 7 2 によって洗浄槽 7 6、試料容器 7 3 およびメンブレンフィルタ 7 4 の各位置間を移動されて、各位置に位置決め停止されることになる。

【 0 0 2 6 】

次に、本実施形態のマイクロアレイ製造装置 1 によりマイクロアレイを製造する際の吸引動作時および吐出動作時の作用を図 4 (a) ~ (e) および図 5 を用いて説明する。

まず、吸引動作について説明する。液体吐出ユニット 7 1 を洗浄槽 7 6 の上部

に移動させて、それぞれの液体吐出ヘッド 2 0 の流路部材 3 1 のノズル 3 5 を 1 mm ~ 2 mm だけ洗浄槽 7 6 中に浸漬させてから電磁弁 2 7 を開放し、送水ポンプ 2 8 により液体供給タンク 2 6 内の洗浄水を流路に送液して、流路 3 4 の内周面とノズル 3 5 の外周面および端面とを洗浄水によって洗浄する。このように洗浄水を送液している間に、シリンジピストンポンプ 2 5 を中点まで移動させ、それによりシリンジピストンポンプ 2 5 内に洗浄水を充填する。この状態で、電磁弁 2 7 を閉じてから、液体吐出ヘッド 2 0 を洗浄槽 7 6 の上方に上昇させる。その後、シリンジピストンポンプ 2 5 のピストンを所定量だけ上方に移動させて、洗浄水をノズル 3 5 より吐出させる。その後、再びシリンジピストンポンプ 2 5 のピストンを中点まで移動させ、所定量の空気を流路 3 4 内に吸引する。

【 0 0 2 7 】

次に、液体吐出ユニット 7 1 を試料容器 7 3 の上部に移動させて、それぞれの液体吐出ヘッド 2 0 の流路部材 3 1 のノズル 3 5 から試料容器 7 3 内の孔に入っている DNA 溶液を流路 3 4 内に吸引する。流路内に吸引された DNA 溶液は、図 4 (a) に示す空気層 3 8 によって洗浄水と分離された状態となっている。この DNA 溶液の吸引の終了後に、液体吐出ユニット 7 1 をメンブレンフィルタ 7 4 上に移動させて位置決め停止させ、そこで、メンブレンフィルタ 7 4 および液体吐出ユニット 7 1 の X Y 平面内での相対位置関係を変化させることにより吐出位置を微調整しながら、後述する方法によってメンブレンフィルタ 7 4 上に DNA 溶液を吐出する。

【 0 0 2 8 】

次に、吐出動作について説明する。液体吐出ヘッド 2 0 の積層圧電素子 2 9 に図 5 に示すような波形の電圧を印加する間、図 4 (a) の $t < t_1$ 、電圧 $E = E_0$ のときの流路部材 3 1 のノズル 3 5 の先端の上下方向の位置を A とすると、図 4 (b) の $t_1 < t < t_2$ における電圧の緩やかな上昇に伴い、液体吐出ヘッド 2 0 は図中の下方向にゆっくりと変位し、図 4 (c) の $t = t_2$ の直前では、積層圧電素子 2 9 には電圧 E_1 に対応する変位が生じ、その変位によりノズル 3 5 の先端は B の位置まで下降する。なお、上記位置 A および位置 B の間のストローク量は、例えば $1 \sim 10 \mu\text{m}$ である。

【 0 0 2 9 】

その後、図 4 (d) の $t = t_2$ において電圧 E は瞬時に E_0 まで減少する。この電圧 E の急減に伴い、液体吐出ヘッド 20 の流路部材 31 は下降から上昇に転じて急激に図中上方向に移動する。この流路部材 31 の吐出方向 (Z 方向) に沿う進退移動の間、下降している流路部材 31 が B の位置に停止したとき、流路部材 31 の流路 36 内の DNA 溶液には図中下方向の慣性力が作用して下方向への流れが発生する。この流れにより、流路 36 の先端部の圧力が上昇し、ノズル 35 の端面から DNA 溶液の液滴がメンブレンフィルタ 74 上に吐出される。この場合、吐出される液体の液量は、ノズル径や DNA 溶液の物性値や、駆動電圧波形等によって異なるものとなるが、およそ $0.1 \text{ nl} \sim 0.3 \mu\text{L}$ である。その後、図 4 (e) の $t > t_2$ において、液体吐出ヘッド 20 は初期の位置に復帰する。

【 0 0 3 0 】

上記のようにして吐出される DNA 溶液の液滴の直径は約 $\phi 50 \mu\text{m} \sim \phi 200 \mu\text{m}$ であり、このような液滴をメンブレンフィルタ 74 上に約 $150 \mu\text{m} \sim 400 \mu\text{m}$ の間隔で吐出する。この場合、8 本の液体吐出ヘッド 20 からそれぞれのメンブレンフィルタ 74 上に同時に DNA 溶液を吐出した後、液体吐出ユニット 71 を再び洗浄槽 76 の上部に移動し、そこで流路 34 内に残った DNA 溶液を排出して、流路 34 および外周面の洗浄を行う。以降、XYZ ロボット 72 によって XY 平面内におけるメンブレンフィルタ 74 および液体吐出ヘッド 20 の流路部材 31 の相対位置関係を変化させながら上述した吸引動作、吐出動作および洗浄動作を繰り返して、メンブレンフィルタ 74 上に DNA 溶液の微小液滴を $75 \mu\text{m} \sim 400 \mu\text{m}$ 間隔の 2 次元マトリックス状に吐出する。その際、メンブレンフィルタ 74 は多孔質であるので、吐出された DNA 溶液はメンブレンフィルタ 74 に浸透して、保持される。このようにしてマイクロアレイである DNA プローブアレイが作成される。

【 0 0 3 1 】

本実施形態によれば、液体吐出ヘッド 20 の流路部材 31 の先端のノズル 35 から DNA 溶液が慣性力によって吐出され、この慣性力は流路 34 内に気泡が存

在していてもその大きさが変化しないので、流路 3 4 内の気泡の有無に拘わらず常に一定量の DNA 溶液が一定速度で吐出されることになり、均一なスポット径を有する DNA プローブアレイを吐出位置精度良く製作することができる。また、液体吐出ヘッド 2 0 の流路部材 3 1 の進退移動により流路 3 6 の先端部の圧力が上昇するので、DNA 溶液の吐出速度を増大させることができる。

【0 0 3 2】

なお、本実施形態では、マイクロアレイの試料として一本鎖 DNA プローブを用いたが、これに限定されるものではなく、アレイを構成する試料としては、例えば、リガンドや該リガンドに対するレセプタ、特定のアミノ酸配列を有するオリゴまたはポリペプチド、各種酵素、各種蛋白、抗原および抗体、特定塩基配列を有する DNA あるいは RNA、または PNA 等を用いてもよい。

【0 0 3 3】

また、本実施形態では、基板として多孔質のメンブレンフィルタ 7 4 を用いたが、これに限定されるものではなく、例えば、スライドガラス、シリコン基板、プラスチック板、セラミックス板等を用いてもよい。ただし、隣接するプローブ間のコンタミネーションを防止するためには、基板上に吐出されたプローブは所定の位置に固定されることが望ましいが、プローブの試料を固体基板上に固定するには、プローブおよび基板の双方に、互いに反応可能な官能基を結合させておけばよい。このような方法は既にいくつかが公開されており、例えば、プローブの末端にチオール（-SH）基を結合させておき、基板表面がマレイミド基を有するように処理しておくことで、基板表面に供給されたプローブのチオール基と基板表面のマレイミド基とが反応してプローブが基板上に固定されるようにしてもよい。また、基板上にエポキシ基を導入しておき、これとプローブの末端のアミノ基とを反応させるようにしてもよい。

【0 0 3 4】

図 6 および図 7 はそれぞれ、本発明の第 2 実施形態のマイクロアレイ製造装置の構成を示す正面図および上面図であり、上記第 1 実施形態と同一の部分には同一符号を付けてある。本実施形態のマイクロアレイ製造装置 2 においては、メンブレンフィルタ 7 4 は XYZ ロボット 7 2 に支持されたフィルタベース 7 7 の下

面に複数枚吸着固定されており、上記第 1 実施形態とはメンブレンフィルタ 7 4 の上下関係が逆転している。図 6 の 7 8 は複数の液体吐出ヘッド 7 9 と試料容器 7 3 とを一体化した吐出ユニットである。以下、吐出ユニット 7 8 の詳細構成を図 8 により説明する。

【0035】

図 8 において、試料容器 7 3 は DNA 溶液を流路部材 8 2 に供給するための液体容器であり、DNA 溶液を液面が大気開放されるように収容する。この試料容器 7 3 は、横 8 列×縦 1 2 列から成る合計 9 6 個の孔を有しており、各孔には蛍光標識化された一本鎖 DNA プローブを含んだ DNA 溶液が入っており、ユニットベース 8 0 上の所定位置に固定されている。8 1 は液体吐出ヘッド 7 9 のベースとなる吐出ヘッドベースであり、コの字型断面形状になっており、試料容器 7 3 を覆うようにユニットベース 8 0 上にネジで締結固定されている。

【0036】

液体吐出ヘッド 7 9 は、図 9 (a) の断面図に示すように、流路部材 8 2 と、該流路部材 8 2 を駆動する駆動手段である積層圧電素子 2 9 と、積層圧電素子 2 9 と流路部材 8 2 とを剛体的に連結する連結部材 8 3 とにより構成されている。流路部材 8 2 の内部には流路 8 4 が形成されており、流路部材 8 2 の流路 8 4 の上端にはノズル 8 5 が形成されている。ノズル 8 5 からテーパ部 8 6 を経てストレート部 8 7 が形成されている。また、流路 8 4 の内表面には酸化チタンがコーティングされており、親水性の表面となっている。流路部材 8 2 の流路 8 4 の下端 8 2 a は開放端となっており、この下端 8 2 a は試料容器 7 3 の孔の内部の DNA 溶液に浸漬されているため、試料容器 7 3 の各孔内の DNA 溶液は、毛細管現象によって流路 8 4 内に吸引されて保持されている。流路 8 4 の表面は酸化チタンによって表面エネルギーが特に高くなっているため、DNA 溶液は毛細管現象によって流路 8 4 に吸い上げられ、流路 8 4 内の全てを充填する。

【0037】

積層圧電素子 2 9 の分極方向の一端（図示下端）は吐出ヘッドベース 8 1 上に接着固定されており、他端（図示上端）は連結部材 8 3 を介して流路部材 8 2 に固定されており、積層圧電素子 2 9 が伸縮することによって、流路部材 8 2 全体

が吐出方向（図中上下方向；Z方向）に進退移動するようになっている。1つの吐出ユニット78には合計96本の液体吐出ヘッド79が設けられており、このような吐出ユニット78がベース88の所定位置に4個配置されている。なお、各積層圧電素子29には、図示しない駆動回路からコネクタおよびリード線を介して所望の電圧が印加されるようになっている。

【0038】

メンブレンフィルタ74はXYZロボット72によって各吐出ユニット78上に移動配置され、それによりXY平面内におけるメンブレンフィルタ74および各吐出ユニット78の液体吐出ヘッド79の相対位置関係が調整される。メンブレンフィルタ74および液体吐出ヘッド79のノズル85の距離は、およそ0.5mm～2mmである。

【0039】

次に、本実施形態のマイクロアレイ製造装置2によりマイクロアレイを製造する際の吸引動作時および吐出動作時の作用を図6、図7を用いて説明する。

まず、吸引動作について説明する。図6において、まず、XYZロボット72によってメンブレンフィルタ74を所望の液体吐出ヘッド79の上方約1mmの位置に移動させて位置決め固定する。次に、前記液体吐出ヘッド79の積層圧電素子29に前述した図5の駆動電圧波形を印加して、上記第1実施形態と同様な作用によって、ノズル85より流路84に保持されているDNA溶液を上方に配置されているメンブレンフィルタ74に向けて微小な液滴として吐出する。

【0040】

このとき、吐出される液滴の飛行速度は重力の影響により減少するが、ノズル85およびメンブレンフィルタ74間の距離（例えば約1mm）に対し吐出される液滴の速度が3m/s～10m/sと十分速いため、吐出される液滴は確実にメンブレンフィルタ74上に着弾する。なお、吐出されるDNA溶液の液滴の大きさは直径 $\phi 30\mu\text{m}$ ～ $\phi 300\mu\text{m}$ であり、メンブレンフィルタ74は多孔質であるので、吐出されるDNA溶液はメンブレンフィルタ74に浸透して保持される。その後、メンブレンフィルタ74を図7に示すXY方向に2次元マトリクス状に移動させながら、それぞれの位置において液体吐出ヘッド79からDNA

溶液を吐出し、DNA溶液の微小スポットをマトリクス状かつ高密度にメンブレンフィルタ74上に配置することによりDNAプローブアレイを作成する。

【0041】

なお、予めメンブレンフィルタ74の移動手順と、液体吐出ヘッド79の吐出タイミングとを決定しておけば、上記動作は自動的に行うことができる。また、吐出ユニット78は、試料容器73と吐出ヘッドベース81とに分解して洗浄することにより、繰り返し使用することができる。また、複数の吐出ユニット78を準備しておけば、吐出ユニットの洗浄とプローブアレイの作成とを同時に行うことができる。

【0042】

本実施形態によれば、上記第1実施形態の効果が得られる上に、以下の効果が得られる。すなわち、本実施形態では、流路部材82内の流路84のノズル85を設けた端部と対抗する端部を開放端82aとして、その開放端82aを、液面が大気開放されるようにDNA溶液を収容する試料容器73のDNA溶液内に浸漬するように構成して、毛細管現象により試料容器73から流路部材82内にDNA溶液が供給されて流路84に保持されるようにしたため、DNA溶液を吸引する必要がなく、流路部材82内の流路84にDNA溶液を導入するための液体供給機構（配管、シリンジピストンポンプ、電磁弁等）が不要になり、装置の小型化や装置コストの低減が可能になる。

【0043】

さらに、本実施形態では流路84の洗浄工程とDNA溶液の吐出工程とを別工程で並行して行うことができるので、短時間にプローブアレイを作成することが可能になる。また、上記第1実施形態では液体吐出ユニット71が移動する際に、テフロン配管24や流路34に保持されている洗浄水やDNA溶液に加速度が加わるため、ノズル35におけるメニスカスの変動する結果、吐出精度に影響を与える可能性があるが、本実施形態によれば、DNA溶液を保持している部分は常に固定されているので、メニスカスの変動することはない、吐出精度を向上させることが可能になる。また、本実施形態では液体吐出ヘッド79を固定してメンブレンフィルタ74の方を移動させるようにしているため、メンブレンフィル

タ 7 4 の移動速度を上記第 1 実施形態よりも速くすることができ、マイクロアレイの作成時間を上記第 1 実施形態よりも短縮することができる。

【 0 0 4 4 】

なお、本実施形態では、図 9 (a) に示すように試料容器 7 3 の液面上に流路部材 8 2 をほぼ垂直に立てる構成としているが、これに限定されるものではなく、例えば図 9 (b) に示すように、試料容器 7 3 の側面に流路部材 8 2 を水平面に対し若干の角度を持つように斜めに立てる構成としてもよい。その場合、 X Y Z ロボット 7 2 による液体吐出ヘッド 7 9 の支持方向も対応するように変更することになる。

【 0 0 4 5 】

【発明の効果】

以上説明したように、本発明によれば、流路内に気泡が混入した場合であっても均一なスポット径を有するマイクロアレイを製造し得るマイクロアレイ製造装置および製造方法を提供することができる。

【図面の簡単な説明】

【図 1】 本発明の第 1 実施形態のマイクロアレイ製造装置の構成を示す正面図である。

【図 2】 (a) , (b) はそれぞれ、本発明の第 1 実施形態のマイクロアレイ製造装置の構成を示す上面図およびその B 部詳細図である。

【図 3】 第 1 実施形態のマイクロアレイ製造装置に搭載されている液体吐出ユニットの斜視図である。

【図 4】 (a) ~ (e) は第 1 実施形態の液体吐出ユニットの液体吐出ヘッドによる液体吐出動作を説明するための図である。

【図 5】 第 1 実施形態の液体吐出ヘッドの積層圧電素子の駆動波形を例示する図である。

【図 6】 本発明の第 2 実施形態のマイクロアレイ製造装置の構成を示す正面図である。

【図 7】 本発明の第 2 実施形態のマイクロアレイ製造装置の構成を示す上面図である。

【図 8】 第 2 実施形態の吐出ユニットの詳細構成を示す図である。

【図 9】 (a) は第 2 実施形態の液体吐出ヘッドの断面図であり、(b) はその変形例を示す図である。

【図 1 0】 従来のマイクロアレイの製造方法を説明するための斜視図である。

【図 1 1】 図 1 0 の A - A 線断面図である。

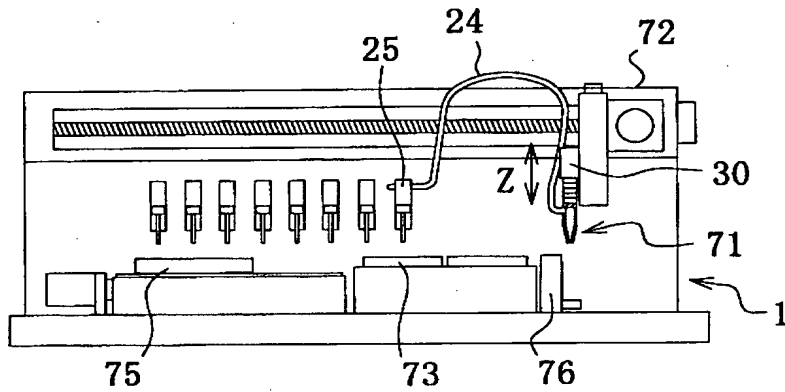
【符号の説明】

- 1, 2 マイクロアレイ製造装置
- 2 0 液体吐出ヘッド
- 2 4 テフロン配管
- 2 5 シリンジピストンポンプ
- 2 6 液体供給タンク
- 2 7 電磁弁
- 2 8 送水ポンプ
- 2 9 積層圧電素子 (駆動手段)
- 3 0 架台
- 3 1 流路部材
- 3 3 液体導入口
- 3 4 流路
- 3 5 ノズル
- 3 6 ストレート部
- 3 7 テーパー部
- 3 8 空気層
- 7 1 液体吐出ユニット
- 7 2 X Y Z ロボット (相対移動手段)
- 7 3 試料容器
- 7 4 メンブレンフィルタ (基板)
- 7 5 可動ステージ
- 7 6 洗浄槽
- 7 7 フィルタベース

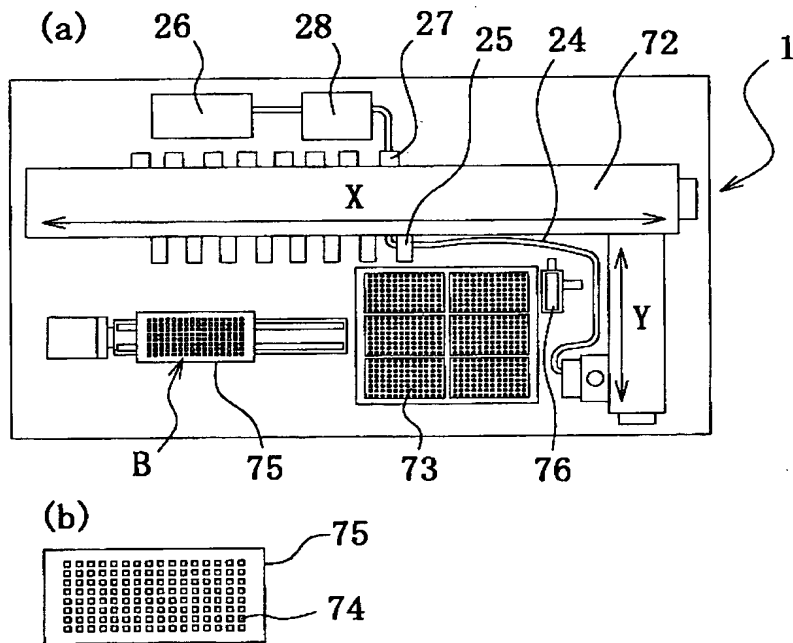
- 7 8 吐出ユニット
 - 7 9 液体吐出ヘッド
 - 8 0 ユニットベース
 - 8 1 吐出ヘッドベース
 - 8 2 流路部材
 - 8 2 a 下端
 - 8 3 連結部材
 - 8 4 流路
 - 8 5 ノズル
 - 8 6 テーパ部
 - 8 7 ストレート部
 - 8 8 ベース
-

【書類名】 図面

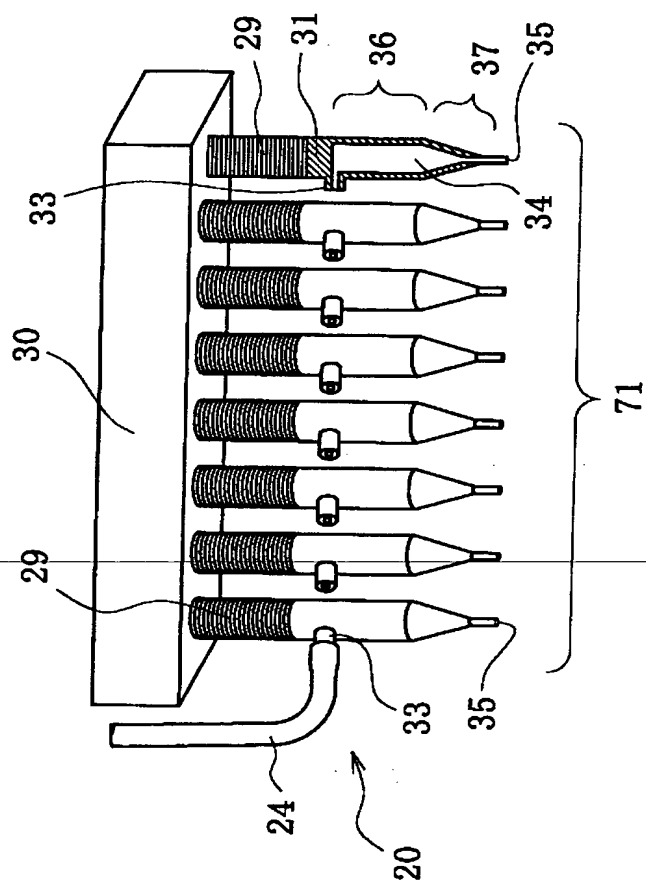
【図 1】



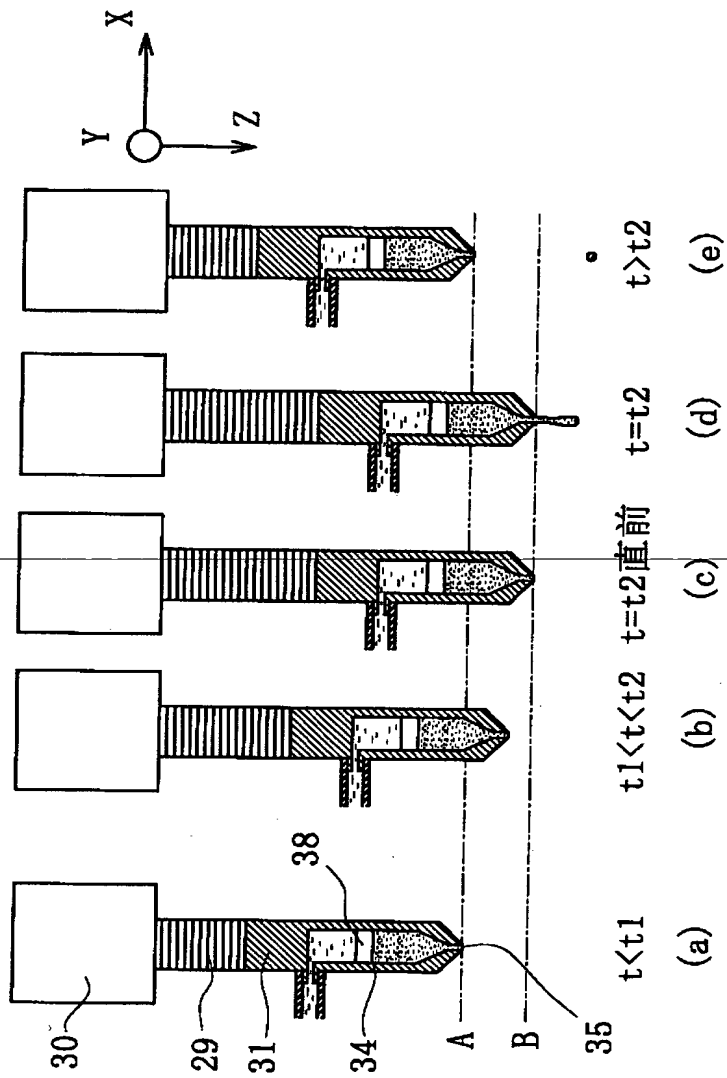
【図 2】



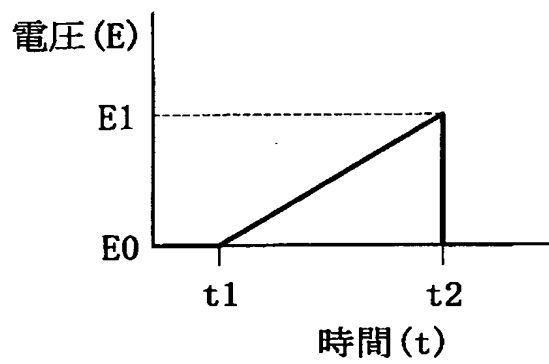
【図 3】



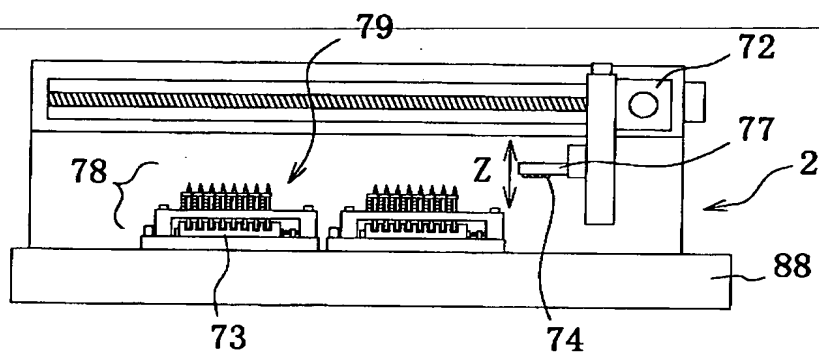
【図4】



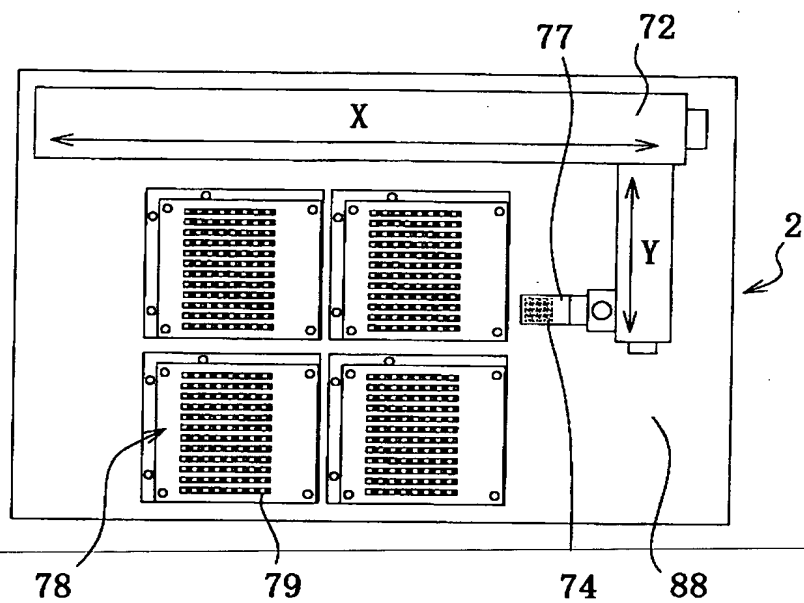
【図 5】



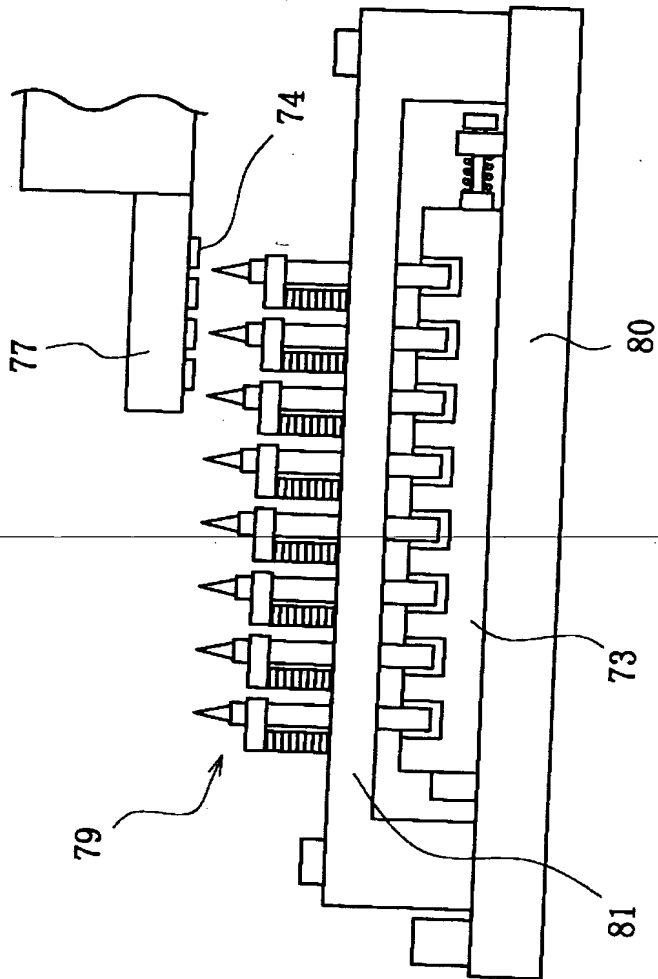
【図 6】



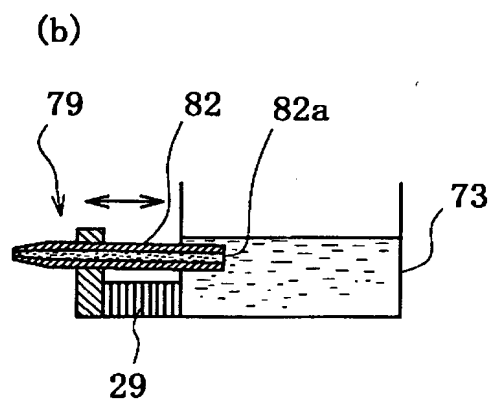
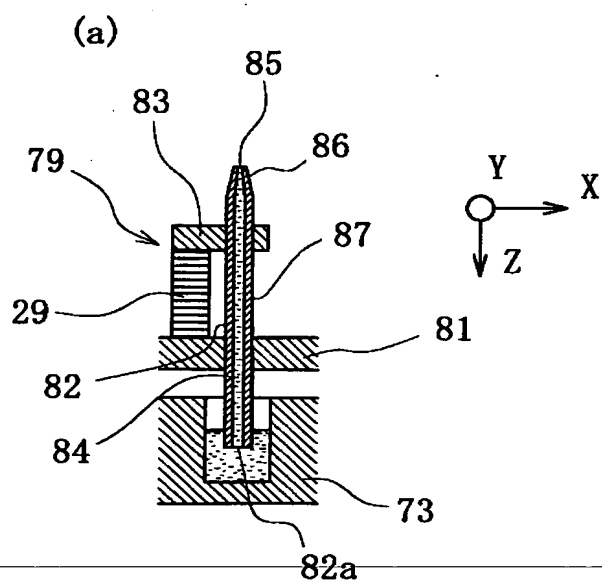
【図 7】



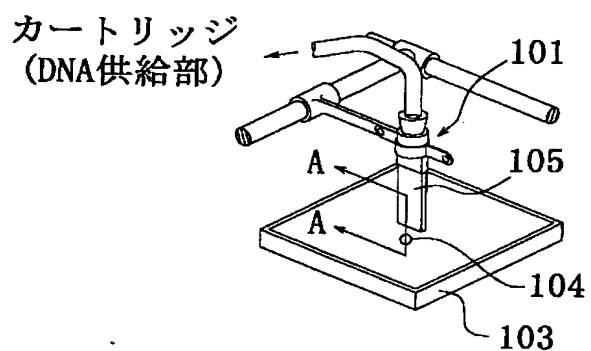
【図 8】



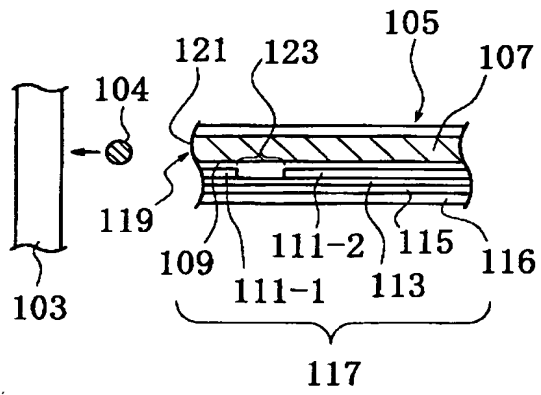
【図 9】



【図 1 0】



【図 1 1】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 DNA溶液を吐出する流路内に気泡が混入しても均一なスポット径のマイクロアレイを製造し得るマイクロアレイ製造装置および方法を提供する。

【解決手段】 標的物質に対して特異的に結合可能なプローブを含むDNA溶液をメンブレンフィルタ74上に微量吐出してマイクロアレイを製造するマイクロアレイ製造装置1では、DNA溶液をその内部の流路34に保持し流路34の一端にノズル35を有する流路部材31およびメンブレンフィルタ74の相対位置関係をXYZロボット72により変化させ、流路部材31を積層圧電素子29によって吐出方向（Z方向）に沿って進退移動させることにより、流路部材31の流路34に保持されたDNA溶液を慣性力によってノズル35からメンブレンフィルタ74上にマトリクス状に吐出する。

【選択図】 図1

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [0 0 0 0 0 0 3 7 6]

1. 変更年月日 1 9 9 0 年 8 月 2 0 日

[変更理由] 新規登録

住 所 東京都渋谷区幡ヶ谷 2 丁目 4 3 番 2 号

氏 名 オリンパス光学工業株式会社
